Aus der Universitäts-Kinderklinik Basel
Direktor: Prof. A. Hottinger
Arbeit unter Leitung von Prof. P. Portmann
Physiologisch-chemisches Institut der Universität Fribourg

BEZIEHUNG DER ALKALISCHEN PHOSPHOMONOESTERASE ZUR GLUCOSERESORPTION IM DÜNNDARM

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde
vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

von

HUBERT ROGGO
von Fribourg

1966

PAULUSDRUCKEREI FREIBURG SCHWEIZ
1967

Aus der Universitäts-Kinderklinik Basel
Direktor: Prof. A. Hottinger
Arbeit unter Leitung von Prof. P. Portmann
Physiologisch-chemisches Institut der Universität Fribourg

BEZIEHUNG DER ALKALISCHEN PHOSPHOMONOESTERASE ZUR GLUCOSERESORPTION IM DÜNNDARM

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Heilkunde
vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

von

HUBERT ROGGO
von Fribourg

PAULUSDRUCKEREI FREIBURG SCHWEIZ
1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Von der Medizinischen Fakultät der Universität Basel genehmigt
auf Antrag von Professor A. Hottinger

Tag der Promotion: 17. November 1966

INHALTSÜBERSICHT

Einleitung 4
Theoretischer Teil 12
Ergebnisse 14
Diskussion der Ergebnisse 19
Experimenteller Teil 21
Zusammenfassung 31
Tabellarische Zusammenstellung der Ergebnisse 32
Literaturverzeichnis 37

EINLEITUNG

HÖBER (1899) hat sich vermutlich als erster mit der selektiven Resorption verschiedener Zucker befaßt und quantitative Untersuchungen über die Resorptionsgeschwindigkeit der Mono- und Disaccharide angestellt (1). Er fand, daß im Hundedünndarm Glucose und Galactose gleich schnell und rascher als ihrer Diffusionsgeschwindigkeit entspricht, Rohrzucker und Lactose aber viel langsamer resorbiert werden. Er zog daraus den Schluß, daß die Zellen aktiv an der Zuckerresorption teilnehmen, während die Salzresorption durch reine Diffusion stattfindet. Ähnliche Resultate erhielten 1900 HÉDON (2) mit Kaninchen und 1902 NAGANO (3) an Hunden mit Vella'scher Fistel. Sie konnten zeigen, daß D-Glucose und D-Galactose etwa gleich schnell, die Pentosen L-Xylose und L-Arabinose aber bedeutend langsamer resorbiert werden. 1925 wurde von CORI (4) ein genauer quantitativer Vergleich der Resorptionsgeschwindigkeit verschiedener Zucker angestellt. Durch seine Versuche an juvenilen Wistar-Ratten, denen er jeweils 2,5 ml der zu prüfenden Zuckerlösung durch eine Magensonde verabreichte, kam er zu folgender Reihenfolge der Resorptionsgeschwindigkeit: Galactose > Glucose > Fructose > Mannose > Xylose > Arabinose. Auch fand er, daß die resorbierte Menge eines bestimmten Zuckers pro 100 g Körpergewicht pro Std. über mindestens 5 Std. konstant bleibt und von der Konzentration der eingeführten Lösung und von der verabreichten Gesamtmenge unabhängig ist. Für die D-Glucose z. B. beträgt dieser Absorptionskoeffizient 0,178 g/100 g/1 Std. Die von CORI angegebene Reihenfolge konnte später bestätigt werden (5,6,7,8). Hingegen stieß die Behauptung, es bestehe für jeden Zucker ein konstanter Resorptionskoeffizient, auf mannigfachen Widerspruch. Es wurde eine vierfache Abhängigkeit der Resorptionsgeschwindigkeit festgestellt:

a) Sie beginnt nach 30 Minuten zu sinken (9) und fällt besonders stark in der dritten Stunde (10,11,12,13).

b) Der Resorptionskoeffizient ist abhängig von der Konzentration der eingeführten Zukcerlösung: AUCHINACHIE ET AL. (14), MACLEOD ET AL. (15)

und MAGEE ET AL. (16) fanden für Glucose ein Optimum, wenn die Lösung 0,75 m war.

c) Der Resorptionskoeffizient steigt mit der verabreichten Gesamtmenge (10,11,17,18).

d) Der Resorptionskoeffizient ist abhängig von der Temperatur (14) und vom Darmabschnitt; er ist größer im proximalen als im distalen Dünndarm (18,19,20).

Hatten schon HÖBER (1) und nach ihm VERZÁR 1935 (21) postuliert, daß bei der Resorption von Glucose und Galactose die Zellen aktiv teilnehmen, bewiesen 1939 BÁRÁNY ET AL. (22) diese aktive Rolle der Dünndarmzellen, indem sie experimentell zeigten, daß isolierte Kaninchen-Dünndarmschlingen Glucose gegen ein Konzentrationsgefälle resorbieren. Diese Feststellung konnte später durch WILSON ET AL. 1954-1960 (8,23,24,25) in vitro anhand von umgestülpten Darmsegmenten von Goldhamstern bestätigt und auf 13 weitere Zuckerverbindungen ausgedehnt werden. Nicht resorbiert gegen ein Konzentrationsgefälle werden nach WILSON ET AL. (8) u. a.: Fructose, Sorbose, Mannose, Arabinose, Xylose und Ribose.

An Erklärungsversuchen für die Sonderstellung der Glucose und Galactose fehlt es nicht: DE FILIPPI, 1907 (26), gefolgt von POLIMANTI, 1914 (27) und LANG, 1928 (28), fanden bei Hunden nach KH-Mahlzeiten einen erhöhten Glycogen-Gehalt im Pfortaderblut. Daraus folgerte VERZÁR 1931 (29), die Glucose werde bereits im Darmepithel zu Glycogen umgewandelt, womit sich die Glucose-Resorption als reiner Diffusionsvorgang auffassen ließe, da ja das dazu nötige Konzentrationsgefälle ständig vorhanden wäre. Viel später wurde eine ähnliche Theorie diskutiert, wobei es um die Umwandlung der Glucose in eine nicht identifizierte Substanz (30,31) oder um die Spaltung in C_3-Stücke (25,32,33) ging. Die Glycogen-Theorie wurde 1933 von HORNE ET AL. (34) und WERTHEIMER (6) dadurch widerlegt, daß sie während der Glucose-Resorption keinen erhöhten Glycogen-Gehalt im Blut nachweisen konnten, während 1957 ATKINSON ET AL. (35), HAWKINS ET AL. (36) und 1959 LANDAU ET AL. (37) in Versuchen mit radioaktiver Glucose bewiesen, daß die Glucose die Darmwand unverändert durchdringt und im Blut (resp. auf der Serosa-Seite bei in vitro-Versuchen) wiedererscheint. Sie wird während der Resorption nicht in C_3-Verbindungen gespalten und nachher resynthetisiert. Dasselbe wurde 1959 von CHINARD ET AL. (38) für die Glucose-Resorption in der Hundeniere bewiesen. Auch die unbekannte, von HESTRIN-LERNER ET AL. (30,31) geforderte Zwischensubstanz, in die die

resorbierte Glucose verwandelt werden soll, konnte von anderen Autoren nicht gefunden werden.

Von allen Erklärungsversuchen, die unter Voraussetzung einer chemischen Umwandlung der Glucose in der Zelle und des daraus resultierenden ständigen Konzentrationsgefälles darauf abzielen, die Glucose-Resorption als Diffusionsvorgang aufzufassen, ist die Phosphorylierungstheorie die wichtigste und meistdiskutierte. Sie läßt sich wie folgt formulieren: die Glucose diffundiert durch die Zellwand und wird im angrenzenden Zellabschnitt in einen Hexose-Phosphorsäureester umgewandelt. Als solcher diffundiert sie zum gegenüberliegenden Zellende, wo die Phosphorsäure wieder abgespalten wird, und die freie Glucose durch Zellwand, Interstitium und Gefäßwand in das Blut diffundiert. Durch diese Umwandlung ist auf dem ganzen Weg vom Darmlumen in die Blutbahn ein Konzentrationsgefälle garantiert. Diese Theorie setzt voraus, daß Zellwand, Interstitium und Kapillarwand für Glucose frei durchgängig sind.

Den Anstoß zur Entwicklung dieser Theorie ergab die seit langem bekannte diabetogene Wirkung des Phlorhizins. POULSON (39) kam 1930 zum Schluß, daß die Phlorhizinglucosurie durch Hemmung der Rückresorption der Glucose in den Nierentubuli zustandekommt. WERTHEIMER (6), LUNDSGAARD (40) und viele andere Autoren (41,42,43,44,45,46) bewiesen, daß Phlorhizin auch im Darm die Zuckerresorption hemmt, und zwar vor allem jene von Glucose und Galactose, während die durch reine Diffusion resorbierten Pentosen Xylose und Arabinose gar keine Hemmung erfahren. Die Resorptionsgeschwindigkeit der Glucose unter Phlorhizineinfluß gleicht sich jener der Pentosen an. Die Zuckerresorption aus der Peritonealhöhle, die durch reine Diffusion erfolgt, wird durch Phlorhizin nicht beeinflußt. Demgegenüber wird die Resorption der Aminosäuren durch Phlorhizin nur andeutungsweise (etwa 12 %) vermindert. VERZÁR ET AL. (47,48) konnten 1934-1935 ferner zeigen, daß auch die Aufnahme von Neutralfetten aus dem Darm durch Phlorhizin gehemmt wird. Da LUNDSGAARD 1933 (49) in Experimenten mit einem Präparat von Nierenphosphatase mit Froschmuskelbrei, Muskelextrakt und Trockenhefe nachweisen konnte, daß Phlorhizin in Konzentrationen von $^{m}/_{200}$-$^{m}/_{50}$ die Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsvorgänge hemmt, lag es nahe, Phosphorylierungs- oder Dephosphorylierungsvorgänge als spezifische Angriffspunkte der Phlorhizinwirkung bei der Zuckerresorption in Darm und Niere und bei der Fettresorption im Darm anzusehen. Die seit 1912 vorliegenden Beobachtungen (50) über grobe Schädigungen der Tubuluszellen bei Phlorhizinvergiftung, wie Koagulationsnekrosen, intensive trübe Schwellung und glasige Degeneration, wurden

nicht beachtet. Diese Veränderungen sind durch die alleinige Hemmung der Phosphorylierung oder Dephosphorylierung kaum zu erklären.

Nachdem von LUNDSGAARD 1930 (51) und LOHMANN 1931 (52) festgestellt worden war, daß Monojodessigsäure die Hexosephosphatbildung bei der Hefegärung, resp. die Dephosphorylierung in Froschmuskelbrei und -extrakt hemmt, wurden auch Versuche über die Jodacetatwirkung auf die Zucker- und Fettresorption im Darm (47,53,54,55) durchgeführt und festgestellt, daß eine Hemmung eintritt. Diese Monojodessigsäurewirkung wurde daher auch als Indiz für die Richtigkeit der Phosphorylierungstheorie angesehen, zumal LASZT 1935 (56) nachweisen konnte, daß in vitro aus einem Ansatz, der einen Glyzerinextrakt von Rattendarmmucosa und Galactose oder Glucose oder Fructose in Phosphatpuffer enthielt, kein anorganisches Phosphat verschwindet, wenn man Natrium-Monojodacetat hinzufügt. Als Folge der Hexosephosphatbildung nimmt dagegen im gleichen Ansatz ohne Natrium-Monojodacetat das anorganische Phosphat ab. Mit Mannose und Xylose, d. h. mit Zuckern, die im Darm nicht gegen ein Konzentrationsgefälle resorbiert und deren Resorptionsgeschwindigkeit durch Monojodessigsäure und Phlorhizin nicht beeinflußt wird, konnte er auch ohne Monojodessigsäure keine Abnahme des anorganischen Phosphates feststellen, d. h. Mannose und Xylose werden nicht verestert. 1938 wurden die Resorptionsversuche bei Intoxikation mit Monojodessigsäure von KLINGHOFFER (57) wiederholt. Er behandelte Ratten mit 6 oder 20 mg Monojodacetat pro 100 g Körpergewicht (Verzár und Mitarbeiter pflegten 12-16 mg Monojodacetat pro 100 g Körpergewicht zu injizieren) und fand, daß sowohl die Resorption der Glucose, als auch – und dies im Gegensatz zu den Befunden von VERZÁR ET AL. – jene der Xylose und des Kochsalzes gehemmt wird. Er beobachtete bei den mit Monojodacetat vergifteten Tieren noch andere, und zwar schwerste Intoxikationserscheinungen, wie haemorrhagische Enteritis, Blutungen in den Nebennieren, Haemoglobinurie, Pylorospasmus und Pharynxoedem. Der Tod trat innert einiger Minuten bis höchstens 8 Std. nach der Injektion ein. Damit fällt die Jodacetatwirkung als Stütze der Phosphorylierungstheorie dahin. OEHNELL ET AL. (58) kamen 1939 zur gleichen Schlußfolgerung.

Zur Untermauerung der Phosphorylierungstheorie wurden ferner zahlreiche Experimente herangezogen, die den Zweck hatten zu beweisen,

a) daß aktiv resorbierte Zucker durch Schleimhautextrakte oder Schleimhauthomogenate in größerer Menge phosphoryliert werden als nicht aktiv resorbierte (7,56,59,60,61),

b) daß während der Resorption von aktiv resorbierten Zuckern der Gehalt

an organisch gebundenem Phosphor in den Darmmucosazellen ansteigt, resp. jener an anorganischem Phosphat abnimmt (55,62,63,64,65),

c) daß während der Fettresorption der Gehalt an organisch gebundenem Phosphor (Lipide) steigt (62,66),

d) daß die Fettsäureresorption im Darm durch Phosphatzusatz beschleunigt wird (54),

e) daß die Resorption der aktiv resorbierten Zucker durch Phosphatzusatz zur enteral verabreichten Versuchslösung gefördert wird (16). Doch wurden die Resultate von MAGEE ET AL. (16) schon 1935 von LASZT (67) und 1951 von PONZ ET AL. (68) richtiggestellt, indem diese Autoren zeigen konnten, daß die resorptionsfördernde Wirkung nicht auf das Phosphat als solches, sondern lediglich auf die Pufferwirkung des verabreichten Phosphatgemisches zurückzuführen ist. Mit phosphatfreien Puffern erreichten diese Autoren genau die gleiche Wirkung. Das pH-Optimum liegt zwischen 6,5 und 7,5.

Auch LAMBRECHTS (69) veröffentlichte bereits 1936 eine Arbeit, die eindeutig gegen die Richtigkeit der Phosphorylierungstheorie sprach. Er konnte nämlich nachweisen, daß kein Zusammenhang besteht zwischen der diabetogenen Wirkung verschiedener dem Phlorhizin verwandter Substanzen und deren Hemmung der Phosphataseaktivität in vitro. So hemmt z. B. Phloretin, das Aglucon des Phlorhizins, die Phosphatase etwa gleich stark, wirkt aber viel schwächer diabetogen als das Phlorhizin selbst. Umgekehrt hemmt das ebenfalls diabetogene Phlorin die Phosphataseaktivität gar nicht. 1956 stellte SOLS (70,71), angeregt durch die Arbeiten von BISSEGGER ET AL. (59), HELE (7,61) und CSÁKY (60), ebenfalls Phosphorylierungsversuche an. Er verwendete Homogenat von Rattendarmmucosa und prüfte dessen Phosphorylierungsvermögen von verschiedenen Zuckern. Seine Resultate gibt die folgende Tabelle wieder:

	Relative Geschwindigkeit der	
	Resorption	*Phosphorylierung*
Galactose	110	<5
Glucose	100	100
3-Methylglucose	90	<5
Fructose	50	180

	Resorption	*Phosphorylierung*
Mannose	ca. 25	75
Xylose		<5
L-Sorbose		15
Glucosamin		75
2-Desoxyglucose		90

Die drei erstgenannten Zucker werden aktiv, d. h. gegen ein Konzentrationsgefälle resorbiert, die andern nicht. Auffallend ist, daß Galactose und 3-Methylglucose fast gar nicht phosphoryliert werden. Die Resultate zeigen somit klar, daß kein Zusammenhang besteht zwischen Resorptions- und Phosphorylierungsgeschwindigkeit. Die obgenannten Vorgänger von SOLS ließen sich täuschen durch endogene Phosphorylierungsvorgänge im Homogenat (Bildung von Glucose-6-phosphat unter Hexokinasewirkung), weil sie es unterließen, die neuentstandenen Phosphorsäureester zu identifizieren.

Im Bestreben, einen möglichst direkten Beweis gegen die Phosphorylierungstheorie zu erbringen, verglichen CRANE ET AL. 1956 (72) in vitro die Resorption von 1-Desoxyglucose und 6-Desoxyglucose mit jener von Glucose und 3-Methylglucose. Alle vier Verbindungen werden gegen das Konzentrationsgefälle resorbiert und von der Darmwand auf der Serosaseite etwa gleich stark konzentriert, doch können die beiden ersten Verbindungen im Gegensatz zu den beiden letzten an C_1 und C_6 nicht phosphoryliert werden. Aus der Tatsache, daß alle vier Verbindungen gleich gut resorbiert werden, schließen die Autoren, daß beim aktiven Transport von Glucose keine Hexose-1- oder -6-phosphorsäureester entstehen, die Phosphorylierungstheorie also unhaltbar sei. Zur gleichen kategorischen Ansicht kamen 1959 LANDAU ET AL. (37) durch ihre Versuche mit Goldhamsterdärmen in vitro (gleiche Technik wie CRANE ET AL. [72]) unter Verwendung von 1-C^{14}-Glucose und 1-C^{14}-Galactose. Ziel ihrer Arbeit war, denjenigen Anteil der Glucose zu bestimmen, der während des Transportes durch die Darmwand durch den in den Schleimhautzellen vorhandenen Glucose-6-phosphorsäure-Pool geht. Sie fanden, daß dieser Anteil durchschnittlich 8,7 % der resorbierten Glucose ausmacht; die übrigen 91,3 % gehen an diesem Pool vorbei.

Was den Wirkungsmechanismus des Phlorhizins betrifft, kam SHAPIRO (73) 1947 zum Schluß, daß diese Verbindung vor allem das Dehydrogenasesystem und die oxydative Phosphorylierung ungünstig beeinflußt. Eine ähnliche Auffassung haben auch PARSONS ET AL. (74) und NEWEY ET AL. (75). Sie fanden, daß Phlorhizin den Eintritt der Glucose in die Schleimhautzellen von der Lumenseite her hemmt (nicht aber jenen von der Serosaseite her),

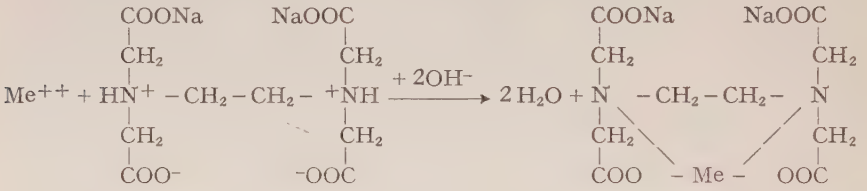
und zwar in Konzentrationen von 10^{-7} m an, während die oxydationshemmende Wirkung erst ab 10^{-3} m beginnt. Eine ähnliche Diskrepanz der wirksamen Konzentrationen war schon JERVIS ET AL. (76) und LOTSPEICH ET AL. (77) aufgefallen. Erstere fanden in vivo bei Ratten eine resorptionshemmende Wirkung, die bei einer Konzentration von 10^{-6} m beginnt, während die Darmphosphatase erst ab 10^{-3} m gehemmt wird. Letztere errechneten, daß beim Hund in vivo bereits bei einer Konzentration im Nierenparenchym von 5×10^{-7} m die tubuläre maximale Rückresorptionskapazität für Glucose herabgesetzt wird, während LUNDSGAARD (49) und MARSH ET AL. (78) 5×10^{-3}-1×10^{-2} m benötigten, um die Nierenphosphatase merklich zu hemmen. Daraus schlossen JERVIS ET AL. (76) und LOTSPEICH ET AL. (77), daß die Glucoseresorptionshemmung wahrscheinlich nicht auf einer Phosphatasehemmung beruht. LOTSPEICH ET AL. kamen durch ihre Experimente am lebenden Hund ferner zur Auffassung, daß die Phlorhizin-Moleküle die Resorptionsstellen für Glucose blockieren. Da dazu relativ wenig Phlorhizin-Moleküle nötig sind, liegen nach ihrer Ansicht die Resorptionsstellen am ehesten in der Zellwand und nicht im Cytoplasma, d. h. Phlorhizin würde die Glucose am Eintreten in die Zellen hindern.

Wie schon oben angedeutet, wandte sich in den letzten Jahren das Interesse der Forscher auf ihrer Suche nach dem Mechanismus der aktiven Zuckerresorption mehr und mehr der Zellwand zu, und es wurde nun anstelle eines Cytoplasma-Carriers (Phosphorylierungstheorie) ein Membran-Carrier postuliert. Nach dieser Theorie wird die Glucose an der Außenseite der Zellmembran (cis-Seite) an eine Trägersubstanz gebunden, worauf dieser Träger-Zuckerkomplex durch die Zellwand zur Innenseite derselben (trans-Seite) wandert, wo der Zucker vom Träger wieder abgespalten wird. Für diese Theorie spricht das Verhalten der Penetrationsgeschwindigkeit von Zuckern durch die Erythrocytenmembran in Abhängigkeit von der Konzentration der Zuckerlösung: die Penetrationsrate steigt vorerst proportional zur Konzentration an, um dann allmählich in eine konstante Sättigungsrate überzugehen (79,80,81). Ferner lassen sich zugunsten dieser Theorie die Versuche über induzierte Resorption an menschlichen Erythrocyten anführen, die 1958 von ROSENBERG ET AL. (82) gemacht wurden. Sie gingen so vor, daß sie Erythrocyten in die Lösung eines Zuckers R einlegten, bis Konzentrationsgleichheit in den Zellen und der Außenflüssigkeit erreicht war (menschliche Erythrocyten sind nicht fähig, Zucker gegen ein Konzentrationsgefälle zu resorbieren). Nun wurde auf der Außenseite in hoher Konzentration ein Zucker S zugegeben, von dem die Autoren auf Grund früherer Versuche annahmen, er werde ebenfalls mit Hilfe eines Carriers,

und zwar des gleichen wie der Zucker R, durch die Membran befördert. Dieser Zucker S hatte die Aufgabe, den Trägermechanismus wieder in Gang zu bringen, und tatsächlich wurde auch wieder R, diesmal gegen ein Konzentrationsgefälle, in die Zelle befördert. R war 1-C^{-14}-Glucose, S war Mannose oder gewöhnliche Glucose. Was die Natur des Trägers anbetrifft, waren Rosenberg (83) und nach ihm Wilbrandt (84), Rosenberg et al. (79) und Le Fèvre (81) der Ansicht, der Zucker werde auf der cis-Seite mit Phosphorsäure verestert, die auf der trans-Seite durch die Phosphatase wieder abgespalten werde. Für diese Theorie, welche eine Modifikation der klassischen Phosphorylierungstheorie darstellt, spricht die Tatsache, daß die Phosphatase vor allem im Bürstensaum der Dünndarmmucosa konzentriert ist, d. h. in unmittelbarer Nähe der trans-Seite der dem Darmlumen zugekehrten Zellwand. Diese Vorzugslokalisation der Phosphatase spricht zugleich gegen die klassische Phosphorylierungstheorie. Andererseits konnten Rosenberg et al. 1952 (79) zeigen, daß phosphoryliertes Phlorhetin, das als polymerisierte, hochmolekulare Verbindung sicher nicht in die Zellen eindringen kann, nur die Phosphatase, nicht aber die Hexokinase hemmt. Diese Verbindung hindert die Glucose nicht daran, in die Erythrocyten einzudringen, wohl aber aus ihnen auszutreten. Phosphoryliertes Phloretin hat also keinen Einfluß auf das cis-System, sondern nur auf das trans-System, in dem folglich nach diesen Autoren die Phosphatase eine Rolle spielen muß.

THEORETISCHER TEIL

Bei den Untersuchungen über die alkalische Darmphosphatase stellte PORTMANN (85) fest, daß die alkalische Phosphatase des Rattendarms durch verhältnismäßig kleine Konzentrationen (10^{-4} m) von Dinatrium-aethylendiaminotetraessigsäure (Komplexon III) vollständig gehemmt wird. Im Gegensatz zum allgemein zelltoxisch wirkenden Phlorhizin ist die Wirkung des Komplexons spezifisch. Sie besteht in der komplexen Bindung der zwei- und dreiwertigen Metallionen nach folgender Gleichung:



Darunter befinden sich auch Metallionen, die als Strukturelemente für die Aktivität der alkalischen Phosphatase absolut notwendig sind. Die Hemmwirkung des Komplexons auf die alkalische Phosphatase kann durch Zugabe von Mg^{++}, Mn^{++} oder Co^{++} vollständig aufgehoben werden. Da Komplexon III zudem per os sehr gut vertragen wird, schien es gegeben, mit diesem Hemmstoff die Frage nach dem Zusammenhang von alkalischer Phosphatase und Glucose-Resorption im Dünndarm unter möglichst physiologischen Bedingungen in vivo zu prüfen.

Zu diesem Zwecke haben wir bei narkotisierten Ratten den Dünndarm in situ in seiner ganzen Länge mit einer auf 38° thermostatisierten Glucoselösung durchströmt, die in geschlossenem Kreislauf aus dem Vorratsgefäß in das Duodenum und vom Ileum terminale in das Vorratsgefäß zurückgepumpt wurde.

Wir haben 5 verschiedene Versuchsserien durchgeführt. Bei Serien I-III wurden jeweils 40 ml einer 2,85%igen Glucoselösung verwendet, die durch Zugabe von 0,5% NaCl blutisotonisch gemacht wurde. Bei Serie II und III enthielten die Lösungen zudem Komplexon III in einer Konzentration

von 10^{-2} m, resp. 5×10^{-2} m, womit eine fast völlige Hemmung der Dünndarmphosphatase erreicht wurde. Die Lösungen durchflossen den Dünndarm während 60 Minuten mit einer Geschwindigkeit von 2,5 ml/min. Jede der 3 Serien bestand aus 8 Ratten beiderlei Geschlechts. In 2 weiteren Serien (IV und V), die je 10 weibliche Ratten umfaßten, wurden die Versuchsbedingungen so geändert, daß die Glucose gegen das Konzentrationsgefälle resorbiert werden mußte. Wir haben deshalb die Glucosekonzentration auf 50 mg% herabgesetzt, ein Wert, der sicher in jedem Fall unter der Blutzuckerkonzentration liegt, die nach unsern Bestimmungen bei nüchternen Ratten 127 $\pm$ 20 mg% (Mittelwert von 16 Tieren) beträgt. Um eine genügend große Menge Glucose zur Resorption zur Verfügung zu stellen, wurde dabei das Volumen auf 200 ml und die Durchflußgeschwindigkeit auf 4,25 ml/min erhöht. Zugleich wurde die Versuchsdauer auf 90 Minuten verlängert. Da in allen 5 Serien neben der Glucose-Resorption auch jene von Cl^- bestimmt wurde, was uns zusammen mit der Bestimmung der Wasserresorption eine Beurteilung der allgemeinen Resorptionsleistung des Darmes erlaubte, behielten wir die Konzentration von 0,5 % NaCl bei und machten die Lösung durch Zugabe von Na_2SO_4 blutisotonisch. Bei Serie V wurde zudem Komplexon III in einer Konzentration von 10^{-2} m zugegeben. Parallelversuche zu jenen der Serie III mit 5×10^{-2} m Komplexon scheiterten daran, daß sämtliche Tiere nach spätestens 65-70 Minuten Versuchsdauer an den Folgen der Komplexonvergiftung eingingen. Die Verträglichkeit des Komplexons geht aus den Ergebnissen der Serie III hervor, bei der die Ratten durchschnittlich 500 mg/kg Körpergewicht resorbierten und diese Dosis während 60 Minuten gerade noch ertrugen. Als Folge der schweren Ca-Stoffwechselstörung konnten bei einigen Tieren kurze klonische Krämpfe beobachtet werden. Ferner traten bei allen Tieren, die Komplexon erhielten, subseröse petechiale Darmblutungen auf.

ERGEBNISSE

Bei 2 weiblichen Ratten von 198 und 214 g Körpergewicht ließen wir eine reine 5,7 %ige Glucoselösung während 60 Minuten mit einer Geschwindigkeit von 3,2 ml/min durch den Dünndarm zirkulieren und massen dabei die Glucose- und Wasser-Resorption. Gleichzeitig dienten diese Versuche zur Ermittlung der Abgabe von NaCl, $HPO_4^{=}$, N und Phosphatase aus dem Verdauungssystem an die Versuchslösung. Auch wurde, wie bei allen andern Versuchen, die Phosphataseaktivität im gesamten Dünndarm gemessen. Die Resultate sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt.

Tab. 1: Zusammensetzung der Versuchslösung vor und nach der Resorption (Mittelwerte aus 2 Versuchen).

	Volumen ml	Glucose mg	NaCl mg	$HPO_4^{=}$ mgP	Stickstoff mg	Phosphatase PE *
Beginn	40	2280	0	0	0	0
Ende	38,5	1862,5	29,5	0,57	12,3	1084
Resorption	1,5	417,5	—	—	—	—
Sekretion	—	—	29,5	0,57	12,3	1084

* PE = Phosphataseaktivitätseinheit — γ P, die pro min bei 38°C und pH 9,6 durch die anwesende Phosphatase aus β-Glycerophosphat in Freiheit gesetzt werden.

Tab. 2: Analysenwerte des Dünndarmhomogenates in mg pro 100 ml (gesamter Dünndarm).

	Trocken-gewicht	Stick-stoff	Phosphatase in PE		
			gesamt	pro mg Tg *	pro mg N
Versuch I	963	82	8350	8,7	101
Versuch II	1193	117	11400	9,5	97
Mittelwert	1078	100	9875	9,1	99

* Tg = Trockengewicht.

Diese Resultate zeigen, daß die Glucose – Resorption aus einer isotonischen Lösung, die nur Glucose enthält, unter den angewandten Bedingungen einer nur kleinen Wasserresorption parallel geht und daß Chloride, Phosphate, stickstoffhaltige Verbindungen und Phosphatase an die Versuchslösung abgegeben werden. Die Phosphatase liegt in einer spezifischen Aktivität von 96 resp. 84 PE pro mg Stickstoff vor. Ähnliche Werte wurden auch bei der Serie I gefunden. Die resorbierte Glucosemenge liegt erwartungsgemäß über jener der Serien I-III, bei denen die Versuchslösung nur halb so konzentriert an Glucose war. Die Analysenwerte des Dünndarms entsprechen jenen der Serien I-V, resp. I und IV, was die Phosphataseaktivität betrifft.

Versuche mit 2,85 %iger Glucoselösung (Serien I-III)

Die Versuchstiere erhielten während 60 Minuten in 40 ml ein Angebot von total 1140 mg Glucose und 200 mg Kochsalz. Da die Durchflußgeschwindigkeit 2,5 ml/min betrug, passierte das vorgelegte Volumen den Dünndarm nicht ganz viermal. Die Lösungen II und III enthielten zudem 148,8 mg, resp. 744,2 mg Komplexon III. Die erhaltenen Werte sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengefaßt.

Tab. 3: Mittelwerte der Resorption und Sekretion ohne und mit Komplexon (II: 10^{-2} m, III: 5×10^{-2} m) unter Angabe der σ-Werte.

Serie	Tierzahl	Körpergewicht	Resorption von				Sekretion von	
			Wasser	NaCl	Glucose	Komplexon	N	Phosphatase
		g	ml	mg	mg	mg	mg	PE
I	8	187 ± 9,1	4,0 ± 1,6	19,4 ± 9,1	343 ± 67,6	0	10,8 ± 2,1	725 ± 321
II	8	174 ± 8,0	2,8 ± 0,9	19,5 ± 6,7	347 ± 51,5	19,0 ± 3,2	10,9 ± 1,3	0
III	8	232 ± 24,6	−1,8 ± 0,15	11,4 + 5,2	281 ± 52,1	115,5 ± 7,9	11,3 ± 1,3	0

Tab. 4: Mittelwerte des Trockengewichts, des Stickstoff- und Phosphatasegehaltes von 100 ml Dünndarmhomogenat (gesamter Dünndarm) mit σ-Werten.

Serie	Komplexonkonzentration in Versuchslösung	Trockengewicht	Stickstoff	Phosphataseaktivität	
		mg	mg	PE	%
I	0	1000	91	9683	100
		± 123	± 12,6	± 3055	
II	1×10^{-2} m	1040	98	529	5,5
		± 134	± 11,1	± 160	
III	5×10^{-2} m	1154	116	240	2,5
		± 257	± 8,3	± 61,2	

Aus diesen Werten geht hervor, daß die Phosphataseaktivität des Dünndarmepithels in Gegenwart von Komplexon III 10^{-2} m auf 5,5 % der mittleren normalen Aktivität gehemmt wird, ohne daß die Glucose- und NaCl-Resorption dadurch beeinflußt wird, während die Wasserresorption in nur unbedeutendem Masse abnimmt. In der Versuchslösung selbst wird die Phosphataseaktivität vollständig gehemmt. Erhöht man die Komplexonkonzentration auf 5×10^{-2} m, so sinkt die Phosphataseaktivität des Dünndarmepithels auf 2,5 %, die Glucose-Resorption aber nur auf 82 % des Ausgangswertes. Diese hohe Komplexonkonzentration stört aber offensichtlich die Resorptionsleistung des Darmes ganz allgemein, was daraus hervorgeht, daß die Kochsalzresorption wesentlich erniedrigt wird und die Wasserresorption sogar in eine Sekretion von 1,8 ml umschlägt. Daß es zu einer Resorptionsstörung kommt, ist nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, daß die Tiere während des Versuchs durchschnittlich 500 mg pro kg Körpergewicht Komplexon resorbierten, am Ende des Versuchs durchwegs ausgedehnte Darmblutungen aufwiesen und die Versuchszeit von 60 Minuten nur mit Mühe überlebten.

Bei 2 Ratten – Nr. 4 und Nr. 5 der Serie I – haben wir bestimmt, wieviel Komplexon durch die in die Versuchslösung sezernierten Metallionen gebunden wird. Zu diesem Zwecke wurden 2 ml resp. 4 ml Versuchslösung mit genau 2 ml Komplexon 10^{-2} m versetzt und diese mit Magnesiumsulfat 10^{-2} m rücktitriert: die Versuchslösung Nr. 4 (total 36 ml) band insgesamt $1{,}12 \times 10^{-2}$ Millimol = 4,17 mg Komplexon, die Versuchslösung Nr. 5 (total 33,5 ml) $0{,}64 \times 10^{-2}$ Millimol = 2,38 mg Komplexon. Dies bedeutet, daß die Komplexonbindung im Darmlumen zumindest bei der Serie III gegenüber den

während des Versuchs durchschnittlich verschwundenen 115,5 mg nicht ins Gewicht fällt, daß also praktisch die ganze verschwundene Komplexonmenge resorbiert wurde.

Versuche mit 0,05 %iger Glucoselösung (Serie IV-V).

In diesen Versuchen wurden den Tieren während 90 Minuten total 100 mg Glucose und 1000 mg Kochsalz angeboten. Das vorgelegte Volumen von 200 ml passierte bei einer Geschwindigkeit von 4,25 ml/min den Darm nicht ganz zweimal. Die erhaltenen Mittelwerte sind in den Tabellen 5 und 6 wiedergegeben.

Tab. 5: Mittelwerte der Resorption und Sekretion ohne und mit Komplexon III 10^{-2} m mit σ-Werten.

Serie	Tierzahl	Körpergewicht	Resorption von				Sekretion von	
			Wasser	NaCl	Glucose	Komplexon	N	Phosphatase
		g	ml	mg	mg	mg	mg	PE
IV	10	189	6,1	28,6	33,2	0	16,7	693
		± 11,8	± 0,99	± 9,1	± 4,9		± 1,9	± 250
V	10	190	5,7	23,8	28,6	26,8	–	0
		± 24,1	± 1,14	± 8,1	± 4,9	± 9,9		

Tab. 6: Mittelwerte des Trockengewichts, des Stickstoff- und Phosphatasegehaltes von 100 ml Dünndarmhomogenat (gesamter Dünndarm) mit σ-Werten.

Serie	Komplexonkonzentration in Versuchslösung	Trockengewicht	Stickstoff	Phosphataseaktivität	
		mg	mg	PE	%
IV	0	1073	102	9447	100
		± 167	± 14,3	± 2390	
V	1×10^{-2} m	996	100	1028	10,9
		± 146	± 16,7	± 343	

Die in 90 Minuten aus der 50 mg%igen Lösung resorbierte Menge Glucose ist etwa zehnmal kleiner als jene, die in 60 Minuten aus einer 2,85 g%igen

Versuchslösung aufgenommen wird. Die resorbierte Wasser- und Kochsalzmenge ist entsprechend der um den Faktor 1,5 verlängerten Versuchsdauer ebenfalls 1,5 mal größer als in den Versuchen der Serie I.

Wie die erhaltenen Resultate zeigen, wird die Glucose-Resorption, auch wenn sie gegen ein starkes Konzentrationsgefälle stattfinden muß, durch eine Hemmung der Dünndarmphosphatase auf 11 % des Kontrollwertes kaum vermindert. Sie beträgt 86 % des Kontrollwertes. Die kleine Erniedrigung geht auch hier wiederum einer geringen Verminderung der Wasser- und Kochsalzresorption parallel, so daß sie mit großer Wahrscheinlichkeit unspezifischen Faktoren zugeordnet werden muß.

Blutzuckerbestimmungen

Die aus der Versuchslösung während der Resorption verschwundene Glucose erhöht die Blutzuckerkonzentration, d. h. sie ist wirklich resorbiert worden. Dies geht aus den Bestimmungen hervor, die bei 16 Versuchstieren vor und nach der Resorption durchgeführt wurden. Die Tabelle 7 zeigt die Mittelwerte dieser Untersuchungen.

Tab. 7: Blutzuckerwerte vor und nach dem Resorptionsversuch.

Serie	Tierzahl	mittleres Körpergewicht	Blutzucker		Differenz
			vor	nach	
		g	mg %	mg %	mg %
I	3	168	129	373	+ 244
II	2	172	113	423	+ 310
III	2	226	140	383	+ 243
IV	4	178	124	209	+ 85
V	5	176	130	235	+ 105

Der Gesamtmittelwert des Blutzuckers im nüchternen Zustand beträgt 127 ± 20 mg %.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

An 46 Ratten wurde die Glucose-Resorption unter möglichst physiologischen Bedingungen untersucht, indem die glucosehaltige, blutisotonische Versuchslösung ohne und mit Zusatz von Komplexon III langsam durch den ganzen Dünndarm gepumpt wurde. Die erhaltenen Resultate zeigen, daß die Glucose gleich gut resorbiert wird, wenn das Dünndarmepithel seine normale Phosphataseaktivität (Mittelwert 9700 PE) aufweist oder wenn man die Enzymaktivität mittels Komplexon auf 2,5-10 % dieses Wertes hemmt. Dies gilt sowohl für die Glucose-Resorption mit, als auch für jene gegen das Konzentrationsgefälle.

Die Wirkungsweise des Komplexons im Darmepithel ist genau bekannt und beschränkt sich auf die komplexe Bindung der zwei- und dreiwertigen Metallionen. Dadurch werden alle Fermente gehemmt, die dieser Metallionen als notwendiger Komplemente bedürfen. Zu diesen Fermenten zählt nicht nur die in dieser Arbeit bestimmte alkalische Phosphatase. Bei der angewandten Komplexonkonzentration werden wahrscheinlich auch die Mg^{++}-abhängigen Hexokinasen fast vollständig gehemmt. Die erhaltenen Resultate deuten deshalb darauf hin, daß für die Glucose-Resorption im Dünndarm die Phosphorylierung keine Rolle spielt, sei es nun, daß man diesen Phosphorylierungsprozeß entsprechend der klassischen Phosphorylierungstheorie (40,49,86,87,88) ins Cytoplasma, sei es, daß man ihn in die Zellmembran (79,81,83,84) lokalisiert. Aus den mitgeteilten Versuchen geht aber zum mindesten eindeutig hervor, daß die alkalische Darmphosphatase keine direkte Beziehung zur spezifischen Glucose-Resorption hat. Die Glucose-Resorption kann deshalb nicht nach einem Mechanismus vor sich gehen, der eine direkte Beteiligung der alkalischen Darmphosphatase zur Voraussetzung hat.

Im Gegensatz zur einfachen Wirkungsweise des Komplexons ist jene des Phlorhizins eine vielfache und nicht genau bekannte. Während Shapiro (73) glaubte, daß Phlorhizin die Zuckerresorption via Hemmung der Oxydationsprozesse herabsetze, vertraten Lotspeich et al. (77) 11 Jahre später die Auffassung, daß Phlorhizin die Resorptionsstellen für Glucose in der Zell-

wand blockiere. Für sicher halten alle neueren Autoren (73,74,75,76,77), daß die Resorptionshemmung nicht eine Folge der Phosphatasehemmung ist, da die nötigen Phlorhizinkonzentrationen zur Erzielung dieser beiden Effekte zu stark differieren: 10^{-6} m für die Glucose-Resorptionshemmung (76,77), mindestens 10^{-3} m für die Hemmung der Phosphatase (49,76,78). Die in den Phlorhizinversuchen erhaltenen Resultate widersprechen demnach den in dieser Arbeit mitgeteilten Ergebnissen und Schlußfolgerungen nicht.

EXPERIMENTELLER TEIL

I. AUSWAHL DER TIERE

Als Versuchstiere dienten sechs bis zwölf Monate alte männliche und weibliche Wistar-Albinoratten. Ihr Gewicht betrug im Durchschnitt 195 g (Minimum 150 g, Maximum 270 g). Die letzte Nahrungsaufnahme fand jeweils 24-30 Stunden vor dem Versuch statt. Nachher erhielten die Tiere nur noch Wasser.

II. DIE NARKOSE

Zur Grundnarkose wurden je nach Größe des Tieres 1-1,3 ml einer 25%igen Aethylurethan-Lösung s. c. injiziert. Nach ungefähr 20 Minuten konnte das Tier auf ein Heizkissen gelegt und zugedeckt werden. Zur Erreichung einer genügend tiefen Narkose war eine zusätzliche Verabreichung von Aether nötig. Wir zogen diese zweistufige Narkose einer größeren Urethandosis vor, weil auf diese Art eine schädliche Überdosierung leichter vermieden werden kann.

III. OPERATIONSTECHNIK UND VERSUCHSANORDNUNG

Das narkotisierte Tier befindet sich in Rückenlage auf dem Heizkissen. Man durchtrennt die Haut mit einer Schere und eröffnet das Abdomen. Der Schnitt reicht vom linken Costalrand in leicht schräger Richtung bis zur Nabelgegend. Der Magen wird unter dem linken Leberlappen hervorgezogen und dessen Vorderwand etwa 1 cm oberhalb des Pylorus in der Gegend der gefäßärmeren großen Kurvatur inzidiert. Durch diese etwa 3 mm lange Inzision wird nach Entfernung des restlichen Mageninhaltes die Olive eines Polyäthylenschlauches (5 mm/2 mm) durch den Magen und den Pylorus so in den Bulbus duodeni vorgeschoben, daß der Pylorus die Einschnürung hinter der Olive umfaßt. In dieser Lage werden Pylorus und Schlauch mit einem doppelten Seidenfaden umschlungen. Durch sattes Anziehen des

Fadens wird die Olive fixiert und der Darm gegen den Magen abgedichtet. Zusammen mit dem Schlauch als Unterlage wird der etwas angehobene Schnittrand mit einem Faden umschlungen und abgebunden. Dadurch können Nachblutungen aus der inzidierten Magenwand verhindert werden.

Soll der Blutzucker bestimmt werden, wird nun die vom Caecum herkommende V. iliocaecalis aufgesucht. Um diese wird distal und proximal von der vorgesehenen Einstichstelle je eine Schlinge gelegt, die nach der Blutentnahme sofort angezogen wird. Die proximale Schlinge soll distal von der Einmündung des letzten sichtbaren Ileumastes liegen, so daß dieser von der Ligatur nicht miterfaßt wird. Man versieht eine Mantoux-Spritze mit einer Injektionsnadel Nr. 14, sticht damit die Vene an und zieht 0,2-0,5 ml Blut auf. Dieses Blut wird sofort in ein möglichst kleines Gefäß entleert und je 0,1 ml für eine Doppelbestimmung des Blutzuckers nach HAGEDORN-JENSEN in 6 ml frisch gefällte Zinkhydroxyd-Suspension pipettiert.

Nach beendeter Blutentnahme wird der Inhalt des Ileum terminale vorsichtig ins Caecum befördert, der Darm möglichst nahe am Caecum unterbunden und das Ileum etwa 1 mm oral davon durchtrennt. Weil durch diesen Schnitt größere Gefäße eröffnet werden, muß man den entsprechenden Stamm vorher unterbinden. Nun wird der Dünndarm mit isotonischer Natriumsulfatlösung von dem ins Duodenum führenden Schlauch aus gespült. Sobald klare Spülflüssigkeit aus dem Ileum fließt, wird die verbleibende Natriumsulfatlösung so gut als möglich aus dem Darm entfernt.

Zum Schluß wird der zweite Schlauch mit seiner Olive ins Ileum eingeführt und mit einer doppelten Fadenschlinge fixiert. Der aus dem Ileum kommende, abführende Schenkel leitet durch ein gebogenes Glasrohr die Glucoselösung in einen Meßzylinder, der in einem Wasserbad von 38° steht. Ein dritter Schlauch, der diesen Meßzylinder mit der Pumpe verbindet, schließt den Kreislauf und führt die auf 38° erwärmte Versuchslösung über die Pumpe ins Duodenum. Nun wird das Abdomen mit zwei Nähten geschlossen, das Tier zugedeckt und die Pumpe eingeschaltet.

Ein Drehwiderstand erlaubt, die Förderleistung der Pumpe zu ändern. Diese betrug (a) für die Serien I-III 2,5 ml/min und (b) für die Serien IV-V 4,25 ml/min. Die Resorptionsdauer war bei a) 60, bei b) 90 Minuten. Dies ergibt ein totales Durchflußvolumen von 150 ml für a), d. h. das vorgelegte Flüssigkeitsvolumen passierte den Darm ca. viermal. Im Falle b) durchflossen den Darm 382,5 ml, d. h. die Versuchslösung passierte den Darm ca. zweimal. Als Versuchsbeginn galt das arithmetische Mittel zwischen der Eintrittszeit der Flüssigkeit ins Duodenum und der Zeit ihres Austrittes aus dem Ileum. Der Darm wurde bei a) in ca. 3 Minuten, bei b) in ca. 2 Minuten gefüllt.

Als Ende des Versuchs galt der Zeitpunkt, in dem man den Dünndarm von seinem Mesenterium abzutrennen beginnt.

15 Minuten vor Ende des Versuchs werden die Nähte in der Bauchwand durchtrennt und in tiefer Aethernarkose durch Schnittverlängerung guter Zugang zum gesamten Abdomen geschaffen. 5 Minuten später erfolgt die zweite Blutentnahme zur Glucosebestimmung durch Punktion des Stammes der V. mesenterica cranialis. Die Blutstillung wird durch einfaches Auflegen eines mit physiologischer Kochsalzlösung getränkten Wattebausches auf die Einstichstelle erreicht. Diese zweite Bestimmung wurde bei den Serien IV und V mit zweimal 0,1 ml Blut und bei den einen höheren Blutzuckeranstieg zeigenden Serien I-III mit zweimal 0,05 bis 0,06 ml Blut durchgeführt. Wenn auf die Blutzuckerbestimmung verzichtet wurde, wie das ja meistens der Fall war, wurden die soeben beschriebenen Verlängerungsschnitte erst 5 Minuten vor Versuchsende gelegt. Nach einer Resorptionszeit von genau 60 oder 90 Minuten wird das Ansaugrohr aus dem Flüssigkeitsreservoir herausgenommen, so daß sich das System leert. Sofort nach Herausnahme des Ansaugrohres wird mit dem Abtrennen des Ileum terminale von seinem Mesenterium begonnen. Zuletzt werden Duodenum und Magen aus dem Abdomen gehoben und der Magen oral vom Eintritt des Polyaethylenschlauches quer abgetrennt. Diese Arbeit erfordert 1-2 Minuten. Nach Herausnahme des Darmes legt man ihn auf eine Glasplatte und wartet, bis weiter durchgepumpte Luft den Darminhalt möglichst vollständig verdrängt hat. Darauf schneidet man den Darm nahe an den Schlaucholiven ab, hält ihn über den Meßzylinder und läßt während einiger Minuten den restlichen Darminhalt ausfließen. Der Darm wird in tiefgefrorenem Zustand bis zur nachfolgenden Homogenisierung aufbewahrt. Die drei Polyaethylenschläuche werden durch Ausblasen und Abtropfenlassen ebenfalls möglichst vollständig entleert. Die im System (Darm, Schläuche, Pumpe) verbleibende Flüssigkeitsmenge überschreitet kaum 0,5 ml. Dieses Volumen ergibt für die Serien I-III einen relativen Fehler von höchstens 1,5 % und für die Serien IV und V einen solchen von 0,25 %. Die Versuchslösung wird nach Bestimmung ihres Volumens durch Ablesen des Niveaus im Meßzylinder (I-III) oder durch Zurückwägen (IV und V) ebenfalls im Kühlschrank aufbewahrt.

IV. ZUSAMMENSETZUNG DER VERSUCHSLÖSUNGEN

Serien I, II und III

In einen 50 ml Meßzylinder wurden pipettiert:

20 ml einer wässrigen Lösung, die in 100 ml 5,70 g Glucose und 1,0 g Kochsalz enthielt. Dies entspricht 1140 mg Glucose und 200 mg Kochsalz in isotonischer Lösung.

20 ml destilliertes Wasser (I) oder 20 ml 0,02 m Komplexonlösung (= 148,84 mg Komplexon; II) oder 20 ml 0,1 m Komplexonlösung (= 744,20 mg Komplexon; III).

Das Volumen des Gemisches wurde kontrolliert und jede Abweichung von 40 ml bei der Berechnung des Resultates berücksichtigt.

Serien IV und V

In einen gewogenen 250 ml Meßzylinder wurden gegeben:

10 ml 1 %ige Glucoselösung	= 100 mg
100 ml 1 %ige Kochsalzlösung	= 1000 mg

Für Serie V dazu noch:

20 ml 0,1 m Komplexonlösung	= 744,2 mg

1,48 %ige (= isotonische) Natriumsulfatlösung ad 200 ml

Die Lösungen IV und V enthalten 50 mg% Glucose und 500 mg% Kochsalz und soviel Natriumsulfat, daß sie ungefähr blutisotonisch sind. Die Lösung V ist daneben noch 0,01 m an Komplexon. Das spezifische Gewicht dieses Gemisches mit oder ohne Komplexon beträgt 1,0065. Nach Abschluß des Versuches wurde das Volumen wiederum durch Wägen bestimmt.

Die Konzentration der verwendeten Glucoselösungen wurde jeweils nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN überprüft und, wenn nötig, eingestellt.

Nach dem Versuch fanden sich regelmäßig Spuren von Darmschleimhaut und hin und wieder auch Erythrocyten (besonders nach den Versuchen mit Komplexon) in der Versuchslösung. Diese wurde daher zentrifugiert und der Gehalt an Glucose, Kochsalz, Stickstoff und Komplexon und die Phosphataseaktivität in der klaren überstehenden Lösung bestimmt.

V. HERSTELLUNG DES DARMHOMOGENATES

Der Darm wurde unter Zusatz von etwa 25 ml 0,005 m Magnesiumacetatlösung und 3 Tropfen Oktylalkohol mit einem «Polytron»-Homogenisiergerät nach Prof. P. WILLEMS homogenisiert. Durch Zusatz von 0,005 m

Magnesiumacetatlösung wird das Homogenatvolumen auf genau 100 ml gebracht. Auch wenn weitere Verdünnungen für die Bestimmungen nötig waren, wurden doch alle Werte auf 1 ml dieses ersten Homogenates berechnet.

VI. DIE BESTIMMUNGSMETHODEN

Glucosebestimmung

Sie erfolgte nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN nach Fällung der Eiweiße mit frisch gefälltem Zinkhydroxyd. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt mit je 0,1 ml der 2:50 verdünnten Versuchslösung (Serien I-III), resp. mit je 0,2 ml der unverdünnten Versuchslösung (Serien IV und V). Dieselbe Methode wurde auch für die Blutzuckerbestimmung verwendet.

Chlorionenbestimmung

Nach Enteiweißung der zu untersuchenden Lösungen mit 1,55 %igem Uranylacetat wurde ihr Chlorionengehalt nach der Methode von VOLHARD bestimmt. Um die für die Serumchloridbestimmung ausgearbeitete Vorschrift benützen zu können, waren bei der Enteiweißung folgende Verdünnungen nötig:

	Serien I-III	*Serien IV und V*
Uranylacetat	2 ml	2 ml
zu untersuchende Lösung	2 ml	4 ml
destilliertes Wasser	6 ml	4 ml
	10 ml	10 ml
Fällung:		
Silbernitrat-Eisenammoniakalaun	9 ml	15 ml
Filtrat	6 ml	6 ml
destilliertes Wasser	15 ml	9 ml
	30 ml	30 ml

25 ml, d. h. 5/6 des Filtrates werden mit Ammoniumrhodanid rücktitriert. Der Bestimmungsfehler bei dieser Methodik beträgt höchstens $\pm$ 0,02 mg NaCl. Dies ergibt einen relativen Fehler von $\pm$ 0,4 % bei den Serien I-III und von $\pm$ 0,2 % bei den Serien IV und V.

Die Lösungen und Reagenzien:

0,01 m Magnesiumacetatlösung
Ammoniakpuffer pH 10: 0,1 m NH_4Cl 2 Teile
0,1 m NH_4OH 8 Teile

Eriochromschwarz T, mit Kochsalz zu einem 1 %igen Gemisch verrieben.

3 ml der Versuchslösungen der Serien II und V oder 0,4 ml bei der Serie III werden in ein 150 ml Becherglas pipettiert. Dazu werden ca. 50 ml dest. Wasser und 1 ml Ammoniakpuffer gegeben. Vom Eriochromschwarz-Kochsalzgemisch wird mit dem Spatel soviel zugegeben, daß die Lösung deutlich blau wird. Aus einer Microbürette wird das vorhandene Komplexon III mit 0,01 m Magnesiumsulfatlösung bis zur Farbänderung nach Violett titriert.

Bestimmung der Phosphataseaktivität

Die Fermentlösung, resp. das Homogenat wird in geeigneter Konzentration zusammen mit Na-ß-Glycerophosphat während genau 10 Minuten bei 38° und pH 9,6 inkubiert. Abgestoppt wird die Reaktion mit 25 %iger Trichloressigsäure. Die Menge des pro Minute freigesetzten Phosphates gilt als Maß für die Phosphataseaktivität. Die in dieser Arbeit verwendete Phosphataseeinheit (PE) bezeichnet demnach diejenige Fermentmenge, die 1 γ Phosphor bei 38° und pH 9,6 pro Minute aus Na-β-Glycerophosphat freisetzt.

Die Substrat-Pufferlösung:

1,00 g Na-β-Glycerophosphat	= 3,27 Millimol	= 101,3 mg P
1,03 g Na-Veronal	= 5 Millimol	
0,53 g Na_2CO_3	= 5 Millimol	
35 ml 0,1 n Salzsäure		
destilliertes Wasser ad 160 ml.		

Der pH wird bei Zimmertemperatur (20°) mit der Glaselektrode durch Zugabe von 0,1 n Salzsäure oder Natronlauge auf genau 9,6 eingestellt.

Die als Aktivator wirkenden Magnesiumionen wurden im Prinzip der Fermentlösung bzw. dem Homogenat zugefügt, indem der Darm mit 0,005 m

Magnesiumacetatlösung homogenisiert wurde. Auch für die Verdünnungen der Versuchslösung und für alle weiteren Verdünnungen des Homogenats verwendeten wir 0,005 m Magnesiumacetatlösung. Nur bei den Serien II und III wurde der Darm mit destilliertem Wasser homogenisiert. In diesem Falle und bei der Phosphataseaktivitätsbestimmung der wenig aktiven Versuchslösungen der Serien II-V wurden 0,2 Millimol Magnesiumacetat der Substrat-Pufferlösung zugefügt. Für die Messung der Phosphataseaktivität der Versuchslösung der Serie V wurden die oben angegebenen Mengen an Substrat- und Puffersubstanzen nicht in 160, sondern in 120 ml gelöst, damit bei der Inkubation von 4 ml Versuchslösung mit 6 ml Substrat-Pufferlösung die Endkonzentration im Versuchsansatz dieselbe blieb.

Die Inkubation:

8 ml Substrat-Puffergemisch (6 ml bei der Versuchslösung der Serie V) werden in Schliffreagenzgläser von 25 ml Inhalt pipettiert. Diese werden bis zur Temperaturkonstanz in ein Wasserbad von 38° gestellt. Dann werden 2 ml der Versuchslösung (4 ml im Falle der Serie V) oder 2 ml Homogenat zupipettiert. Nach einer Inkubation von genau 10 Minuten wird das Ferment mit 2 ml 25 %iger Trichloressigsäure inaktiviert.

Der Inkubationsansatz besteht demnach aus 10 ml Lösung und enthält neben dem Ferment in geeigneter Konzentration:

Na-β-Glycerophosphat	0,16	Millimol	= 5,06 mg P
Na-Veronal	0,25	Millimol	
Na_2CO_3	0,25	Millimol	
HCl	0,175	Millimol	
Mg	0,01	Millimol	

Um korrekte Resultate zu erhalten, sollten nicht mehr als 2 % des vorgelegten Substrates gespalten werden. Andererseits muß aber nach der Inkubation soviel Phosphat vorhanden sein, daß dessen Menge korrekt bestimmt werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb die Fermentlösungen so verdünnt, daß 2-9 PE im Inkubationsansatz vorhanden waren. Diese Fermentmenge spaltet in 10 Minuten 0,4 - 1,8 % des Substrates.

Alle zu untersuchenden Lösungen und Homogenate wurden im Prinzip in 2 verschiedenen Konzentrationen inkubiert; bei den Serien I,II und III wurde sogar jede der beiden Konzentrationen zweimal inkubiert. Die gefundene Menge Gesamtphosphor wurde auf 1 ml unverdünnte Versuchslösung oder Homogenat bezogen und von den mit den beiden Fermentverdünnungen erhaltenen Werten das arithmetische Mittel berechnet.

Der anorganische Phosphor:

Die geprüften Lösungen und Homogenate enthielten alle eine nicht zu vernachlässigende Menge an anorganischen Phosphaten. Das anorganische Phosphat wurde jeweils doppelt bestimmt und nach Umrechnung auf 1 ml Versuchslösung resp. Homogenat von dem nach der Inkubation gefundenen Gesamtphosphor abgezogen. Zur Bestimmung des anorganischen Phosphors wird ein dem Inkubationsansatz entsprechendes Gemisch hergestellt, die Trichloressigsäure aber vor dem Ferment zugegeben.

Die photometrische Phosphorbestimmung:

Die Lösungen

Ammoniummolybdat: 25 g Ammoniummolybdat werden in 300 ml 10 n Schwefelsäure gelöst. Destilliertes Wasser ad 1000 ml.

Amidol: 0,5 g Amidol in 100 ml 5 %iger Natriumsulfitlösung.

Der mit Trichloressigsäure versetzte Inkubationsansatz wird filtriert und 2 ml des Filtrates in ein Photometerröhrchen, das 1 ml Ammoniummolybdatlösung enthält, pipettiert. Der entstehende Phosphomolybdat-Komplex wird mit 2 ml frisch hergestellter Amidollösung zu Molybdänblau reduziert. 15 Minuten später wird mit destilliertem Wasser auf die Marke (10 ml) verdünnt, die Absorption der blauen Farblösung mit dunkelrotem Filter (655 mμ) im Coleman-Photometer gemessen und die entsprechende Menge Phosphor von der Eichkurve abgelesen.

Eine Abweichung von diesem Schema wurde wiederum, wie schon bei der Inkubation, für die Versuchslösungen der Serien IV und V nötig. Der Gehalt dieser Lösungen an anorganischem Phosphor war so gering, daß 4 ml Filtrat für die photometrische Bestimmung verwendet werden mußte. Da aber die Trichloressigsäure die Phosphatbestimmung beeinflußt, wurde das Ferment mit 2 ml 12,5 %iger (statt 25 %iger) Trichloressigsäure gefällt, damit deren Konzentration bei der Farbentwicklung den Standardbedingungen entspricht.

Schema für die Bestimmung des anorganischen Phosphates bei der Serie IV und V:

6 ml Substrat-Puffergemisch
4 ml Versuchslösung (unverdünnt)
2 ml 12,5 %ige Trichloressigsäure.

Dieses Gemisch wird filtriert. In das Photometerröhrchen werden pipettiert:

1 ml Ammoniummolybdat
4 ml Filtrat
2 ml Amidol
destilliertes Wasser ad 10 ml.

Die verwendeten Verdünnungen:

Zugleich mit den Verdünnungen wird der entsprechende Faktor angegeben, mit dem die gemessene Menge Phosphor multipliziert werden muß, um die entsprechende Menge Phosphor pro 1 ml Versuchslösung oder Homogenat zu erhalten. Dieser Faktor entspricht der gesamten Verdünnung bis und mit der photometrischen Bestimmung.

Um die Aktivität der Phosphatase in PE (P/ml/min) zu erhalten, wird die Differenz Gesamtphosphor minus anorganischer Phosphor durch den Faktor 10 (10 min) geteilt.

Gesamtphosphor nach Inkubation:

Versuchslösungen		Umrechnungsfaktor
Serie I	a) 2 ml auf 10 ml mit Mg-Ac.	15
	b) 2 ml auf 20 ml mit Mg-Ac.	30
Serie II und III	a) unverdünnt	3
	b)	3
Serie IV	a) unverdünnt	3
	b) 5 ml auf 10 ml mit dest. Wasser	6
Serie V	a) unverdünnt	0,75
	b)	0,75
Homogenate		
Serie I und IV	a) 2 ml auf 50 ml mit Mg-Ac.	75
	b) 2 ml auf 100 ml mit Mg-Ac.	150
Serie II und III	a) 2 ml auf 10 ml mit dest. Wasser	15
	b) 2 ml auf 20 ml mit dest. Wasser	30
Serie V	a) 2 ml auf 10 ml mit Mg-Ac.	15
	b) 2 ml auf 20 ml mit Mg-Ac.	30

Anorganischer Phosphor:

Versuchslösungen		*Umrechnungsfaktor*
Serie I bis III	unverdünnt	3
Serie IV und V	unverdünnt	0,75
Homogenate		
Serie I bis V	2 ml auf 10 ml	15

Stickstoffbestimmung

Der Stickstoff wurde nach der Halbmikromethode von KJELDAHL bestimmt. Eine etwa 0,2-0,5 mg Stickstoff entsprechende Menge Versuchslösung oder Homogenat wird mit 2 ml konzentrierter Schwefelsäure und einigen Tropfen 10 %iger Kupfersulfatlösung verascht, der mit 33 %iger Natronlauge in Freiheit gesetzte Ammoniak in 5 ml 0,01 n Salzsäure überdestilliert und die überschüssige Säure mit 0,01 n Natriumborat zurücktitriert.

Als Indikator dient Methylrot.

1 ml 0,01 n Salzsäure entspricht 0,14 mg Stickstoff. Falls die untersuchte Lösung Komplexon enthielt (Serien II und III), wurde der Stickstoff des Komplexons (1 mg Komplexon = 0,0753 mg Stickstoff) vom Gesamtstickstoff abgezogen. Von jeder Versuchslösung und jedem Homogenat wurden jeweils mit 2 verschiedenen Konzentrationen Doppelbestimmungen durchgeführt. Folgende Verdünnungen wurden gewählt:

Versuchslösungen

Serie I:	unverdünnt	davon verascht	1 ml
	2 ml auf 10 ml	»	2 ml
Serie II:	2 ml auf 10 ml	»	2 u. 4 ml
Serie III:	2 ml auf 20 ml	»	2 u. 4 ml
Serie IV:	unverdünnt	»	3 u. 5 ml

Darmhomogenate

	2 ml auf 20 ml	davon verascht	2 u. 3 ml

Bestimmung des Trockengewichtes

3 ml Homogenat werden in ein Wägegläschen pipettiert und während 24-36 Stunden bei 105° getrocknet. Nach dieser Zeit läßt man das Wägegläschen samt Inhalt in einem mit Phosphopentoxyd beschickten Exsikkator abkühlen. Hernach wird das Trockengewicht bestimmt und auf 1 ml Homogenat berechnet.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluß der alkalischen Darmphosphatase auf die aktive Glucoseresorption im Dünndarm von Albinoratten wurde untersucht. Die durchgeführten Versuche zeigen, daß die aktive Glucoseresorption unabhängig ist von der Aktivität der alkalischen Dünndarmphosphatase. Diese kann durch Komplexon fast vollständig gehemmt werden, ohne daß die Glucoseresorption wesentlich abnimmt. Wenn die Phosphorylierungstheorie überhaupt Geltung hat, wird jedenfalls die Dephosphorylierung nicht von der alkalischen Darmphosphatase durchgeführt.

TABELLARISCHE ZUSAMMENSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Serie I

Nr.	Geschlecht	Körpergewicht	Versuchslösung: Resorption von Wasser	Resorption von Kochsalz	Resorption von Glucose	Resorption von Komplexon	Sekretion von Stickstoff	Sekretion von Phosphatase		Darmhomogenat (gesamter Dünndarm in 100 ml): Trockengewicht	Stickstoff	Phosphatase		
								PE total	PE/mg N			PE total	PE/mg Tg*	PE/mg N
		g	ml	mg	mg	mg	mg			mg/ml	mg/ml			
1	m	211	5,5	18,4	481	0	14,1	948	67,2	8,77	0,99	10774	12,3	109
2	m	203	3,5	23,1	325	0	11,7	1064	91,1	9,95	1,04	6231	6,3	60
3	m	190	5,5	19,1	355	0	12,8	1128	87,9	8,68	0,81	9881	11,4	121
4	m	212	4,0	29,8	276	0	9,4	667	71,8	9,30	0,73	10285	11,1	141
5	m	175	6,5	33,2	361	0	8,7	521	58,7	12,12	0,99	15600	12,9	157
6	w	170	2,0	6,2	256	0	9,1	302	32,6	11,45	1,03	8212	7,2	80
7	w	159	3,5	14,2	337	0	8,8	330	36,9	10,13	0,75	10594	10,5	141
8	w	174	1,5	11,0	351	0	12,3	848	67,6	9,57	0,91	5885	6,1	65
Mittelwert		187	4,0	19,4	343	0	10,8	725	64,2	10,00	0,91	9683	9,7	109
Standardabweichung		± 9,1	± 1,6	± 9,1	± 67,6	± 0	± 2,1	± 321	± 21,2	± 1,23	± 0,13	± 3055	± 2,8	± 37

* Tg = Trockengewicht.

Serie II

Nr.	Geschlecht	Körpergewicht	Versuchslösung: Resorption von Wasser	Resorption von Kochsalz	Resorption von Glucose	Resorption von Komplexon	Sekretion von Stickstoff	Sekretion von Phosphatase		Darmhomogenat (gesamter Dünndarm in 100 ml): Trockengewicht	Stickstoff	Phosphatase		
								PE total	PE/mg N			PE total	PE/mg Tg*	PE/mg N
		g	ml	mg	mg	mg	mg			mg/ml	mg/ml			
9	w	176	3,0	21,0	340	17,9	12,9	0	0	10,50	0,98	804	0,77	8,24
10	w	166	4,0	24,4	429	14,6	10,1	0	0	9,08	0,84	655	0,72	7,83
11	w	186	4,0	26,5	398	19,6	11,9	0	0	11,93	0,97	420	0,35	4,34
12	w	181	3,5	21,9	387	21,5	10,9	0	0	10,12	0,96	521	0,51	5,45
13	w	168	1,5	21,4	317	14,5	9,2	0	0	8,00	0,86	471	0,59	5,48
14	w	170	1,5	22,5	308	21,8	10,0	0	0	10,28	0,99	328	0,32	3,32
15	w	164	2,0	8,5	280	19,2	9,5	0	0	11,50	1,03	391	0,34	3,78
16	w	180	2,5	9,9	320	23,2	12,7	0	0	11,80	1,20	643	0,54	5,38
Mittelwert		174	2,8	19,5	347	19,0	10,9	0	0	10,40	0,98	529	0,52	5,48
Standard-abweichung		± 8,0	± 0,9	± 6,7	± 51,5	± 3,2	± 1,3	± 0	± 0	± 1,34	± 0,11	± 160	± 0,17	± 1,77

* Tg = Trockengewicht

Serie III

Nr.	Geschlecht	Körpergewicht	Versuchslösung: Resorption von Kochsalz	Resorption von Glucose	Resorption von Komplexon	Sekretion von Wasser	Sekretion von Stickstoff	Sekretion von Phosphatase PE total	Sekretion von Phosphatase PE/mg N	Darmhomogenat (gesamter Dünndarm in 100 ml): Trockengewicht	Stickstoff	Phosphatase PE total	Phosphatase PE/mg Tg*	Phosphatase PE/mg N
		g	mg	mg	mg	ml	mg			mg/ml	mg/ml			
17	m	214	8,7	248	108	2,5	10,2	0	0	9,18	1,13	213	0,23	1,88
18	m	220	11,2	341	127	1,5	11,2	0	0	11,18	1,08	160	0,14	1,47
19	m	236	11,0	355	119	2,0	11,8	0	0	9,38	1,13	326	0,35	2,88
20	m	203	11,3	302	104	2,5	10,2	0	0	8,60	1,05	204	0,24	1,93
21	m	272	4,3	211	123	2,0	12,2	0	0	11,47	1,26	229	0,20	1,82
22	m	261	7,1	258	108	1,5	9,5	0	0	14,60	1,29	239	0,16	1,86
23	w	241	19,9	305	121	1,0	13,1	0	0	15,71	1,24	337	0,21	2,71
24	w	212	18,1	232	113	1,5	12,4	0	0	12,17	1,14	211	0,17	1,86
Mittelwert		232	11,4	281	115	1,8	11,3	0	0	11,54	1,16	240	0,21	2,05
Standardabweichung		± 24,6	± 5,2	± 52,1	± 7,9	± 0,15	± 1,3	± 0	± 0	± 2,57	± 0,08	± 61,2	± 0,06	± 0,48

* Tg = Trockengewicht.

Serie IV

Nr.	Geschlecht	Körpergewicht	Versuchslösung							Darmhomogenat (gesamter Dünndarm in 100 ml)				
			Resorption von				Sekretion von							
			Wasser	Kochsalz	Glucose	Komplexon	Stickstoff	Phosphatase		Trockengewicht	Stickstoff	Phosphatase		
		g	ml	mg	mg	mg	mg	PE total	PE/mg N	mg/ml	mg/ml	PE total	PE/mg Tg*	PE/mg N
25	w	243	8,4	36,3	30,6	0	18,0	699	38,6	13,10	1,22	11647	8,9	95
26	w	211	6,5	31,3	37,8	0	14,7	447	30,3	13,72	1,17	12117	8,8	103
27	w	189	5,2	19,8	23,8	0	15,4	458	29,8	9,60	0,99	9186	9,6	93
28	w	195	6,2	23,1	36,7	0	15,5	825	53,1	9,65	1,14	9745	10,1	86
29	w	202	5,2	35,5	35,7	0	20,8	1138	54,4	12,47	1,15	11314	9,1	98
30	w	149	7,0	35,2	40,2	0	18,3	756	41,3	9,45	1,00	11807	12,5	118
31	w	180	5,6	11,1	33,5	0	14,6	377	25,8	9,93	0,82	5556	5,6	68
32	w	179	5,8	27,2	28,2	0	17,1	594	34,7	9,85	0,82	5470	5,5	67
33	w	180	5,4	25,1	31,0	0	16,1	609	37,8	10,15	0,97	9186	9,0	94
34	w	165	5,8	41,5	35,0	0	17,1	1029	60,3	9,42	0,94	8446	9,0	90
Mittelwert		189	6,1	28,6	33,2	0	16,7	693	40,6	10,73	1,02	9447	8,8	91
Standardabweichung		± 11,8	± 0,99	± 9,1	± 4,9	± 0	± 1,9	± 250	± 11,7	± 1,67	± 0,14	± 2390	± 2,0	±15

* Tg = Trockengewicht.

Serie V

Nr.	Geschlecht	Körpergewicht	Versuchslösung: Resorption von Wasser	Resorption von Kochsalz	Resorption von Glucose	Resorption von Komplexon	Sekretion von Stickstoff	Sekretion von Phosphatase PE total	Sekretion von Phosphatase PE/mg N	Darmhomogenat (gesamter Dünndarm in 100 ml): Trockengewicht	Stickstoff	Phosphatase PE total	Phosphatase PE/mg Tg*	Phosphatase PE/mg N
		g	ml	mg	mg	mg	mg			mg/ml	mg/ml			
35	w	198	5,1	18,7	22,3	23,0	—	0	0	10,32	1,15	1030	1,00	8,98
36	w	195	5,3	23,5	27,2	28,6	—	0	0	10,43	1,18	1356	1,30	11,45
37	w	182	5,8	19,2	24,0	15,6	—	0	0	7,57	1,02	1060	1,40	10,42
38	w	200	6,8	28,4	26,6	16,5	—	0	0	9,25	0,82	843	0,91	10,28
39	w	155	4,9	14,1	30,8	49,0	—	0	0	8,68	0,81	623	0,72	7,69
40	w	174	5,5	24,1	26,1	19,4	—	0	0	10,93	0,91	848	0,78	9,31
41	w	168	3,5	15,7	24,9	24,2	—	0	0	8,02	0,73	665	0,83	9,07
42	w	208	7,8	32,3	37,6	34,8	—	0	0	12,50	1,17	1146	0,92	9,81
43	w	241	6,0	40,5	34,1	28,2	—	0	0	11,52	1,10	1516	1,32	13,82
44	w	181	6,7	21,2	32,4	28,7	—	0	0	10,43	1,08	1194	1,14	11,09
Mittelwert		190	5,7	23,8	28,6	26,8	—	0	0	9,96	1,00	1028	1,03	10,19
Standardabweichung		± 24,1	± 1,14	± 8,1	± 4,9	± 9,9	—	± 0	± 0	± 1,46	± 0,17	± 343	± 0,24	± 1,68

* Tg = Trockengewicht.

LITERATUR

1 Höber R.: Über Resorption im Dünndarm. Pflügers Arch. ges. Physiol. *74*, 246-271 (1899).

2 Hédon M. E.: Sur la résorption intestinale des sucres en solutions isotoniques. Compt. rend. soc. biol. *52*, 87 (1900).

3 Nagano J.: Zur Kenntnis der Resorption einfacher, im besonderen stereoisomerer Zucker im Dünndarm. Pflügers Arch. ges. Physiol. *90*, 389 (1902).

4 Cori C. F.: The fate of sugar in the animal body, I. The rate of absorption of hexoses and pentoses from the intestinal tract. J. biol. Chem. *66*, 691-715 (1925).

5 Wilbrandt W. und Laszt L.: Untersuchungen über die Ursachen der selektiven Resorption der Zucker aus dem Darm. Biochem. Z. *259*, 398-417 (1933).

6 Wertheimer E.: Phloridzinwirkung auf die Zuckerresorption. Pflügers Arch. ges. Physiol. *233*, 514-528 (1933).

7 Hele M. P.: The phosphorylation and absorption of sugars in the rat. 2. Sugar absorption in vivo and its relationship to the phosphorylation of sugar in vitro. Biochem. J. *55*, 864-867 (1953).

8 Wilson T. H. and Vincent T. N.: Absorption of sugars in vitro by the intestine of the golden hamster. J. biol. Chem. *216*, 851-865 (1955).

9 Fullerton P. M. and Parsons D. S.: The absorption of sugars and water from the rat intestine in vivo. Quart. J. exptl. Physiol. *41*, 387-397 (1956).

10 Pierce H. B., Osgood H. S. and Polansky J. B.: Absorption of glucose from alimentary tract of rats deprived of vitamin B complex. Proc. Soc. exp. Biol. Med. *26*, 347 (1929).

11 MacKay E. M. and Bergman H. C.: The rate of absorption of glucose from the intestinal tract. J. biol. Chem. *101*, 453-462 (1933).

12 Fenton P. F.: Response of the gastrointestinal tract to ingested glucose solutions. Amer. J. Physiol. *144*, 609-619 (1945).

13 Pearson J. W.: Continuous perfusion and absorption in the jejunum of the dog. J. appl. Physiol. *13*, 313-316 (1958).

14 Auchinachie D. W., Macleod J. J. R. and Magee H. E.: Studies on diffusion through surviving isolated intestine. J. Physiol. *69*, 185-209 (1930).

15 Macleod J. J. R., Magee H. E. and Purves C. B.: Selective absorption of carbohydrates. J. Physiol. *70*, 404-416 (1930).

16 Magee H. E. and Reid E.: The absorption of glucose from the alimentary canal. J. Physiol. *73*, 163-183 (1931).

17 MacKay E. and Clark W. G.: The rate of glucose absorption from the intestine of the rat. Amer. J. Physiol. *135*, 187-192 (1941).

18 Reynell P. C. and Spray G. H.: The absorption of glucose by the intact rat. J. Physiol. *134*, 531-537 (1956).
19 Fisher R. B. and Parsons D. S.: Glucose absorption from surviving rat small intestine. J. Physiol. *110*, 281-293 (1950).
20 Fisher R. B. and Parsons D. S.: The gradient of mucosal surface area in the small intestine of the rat. J. Anat. *84*, 272-282 (1950).
21 Verzár F.: Die Rolle von Diffusion und Schleimhautaktivität bei der Resorption von verschiedenen Zuckern aus dem Darm. Biochem. Z. *276*, 17-27 (1935).
22 Bárány E. and Sperber E.: Absorption of glucose against a concentration gradient by the small intestine of the rabbit. Skand. Arch. Physiol. *81*, 290-299 (1939).
23 Wilson T. H. and Crane R. K.: The specifity of sugar transport by hamster intestine. Biochim. biophys. Acta (Amst.) *29*, 30-32 (1958).
24 Wilson T. H. and Landau B. R.: Specifity of sugar transport by the intestine of the hamster. Amer. J. Physiol. *198*, 99-102 (1960).
25 Wilson T. H. and Wiseman G.: The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface. J. Physiol. *123*, 116-125 (1954).
26 de Filippi F.: Sulla ripartizione del glicogeno nel sangue durante l'assorbimento di idrati di carbonio nell'intestino. Nota preventiva. Boll. R. Accad. med. Roma *33*, 150-151 (1907).
27 Polimanti O.: Über die Verteilung des Glykogens im Blute während der Resorption der Kohlenhydrate im Darmrohr. Biochem. Z. *64*, 490-494 (1914).
28 Lang K.: Über Glykogenbildung in der Darmwand. Biochem. Z. *200*, 90-94 (1928).
29 Verzár F.: Probleme und Ergebnisse auf dem Gebiet der Darmresorption. Ergebn. Physiol. *32*, 391-471 (1931).
30 Hestrin-Lerner S. and Shapiro B.: Absorption of glucose from the intestine. I. In vitro studies. Biochim. biophys. Acta (Amst.) *12*, 533-541 (1953).
31 Hestrin-Lerner S. and Shapiro B.: Absorption of glucose from the intestine. II. In vivo and perfusion studies. Biochim. biophys. Acta (Amst.) *13*, 54-60 (1954).
32 Newey R., Smyth D. H. and Whaler: The absorption of glucose by the in vitro intestinal preparation. J. Physiol. *129*, 1-11 (1955).
33 Wilson T. H.: The role of lactic acid production in glucose absorption from the intestine. J. biol. Chem. *222*, 751-763 (1956).
34 Horne E. A. and Magee H. E.: Glycogen synthesis in the small intestine. J. Physiol. *78*, 288-294 (1933).
35 Atkinson R. M., Parsons B. J. and Smyth D. H.: The intestinal absorption of glucose. J. Physiol. *135*, 581-589 (1957).
36 Hawkins J. D. and Wills E. D.: Studies on the intestinal absorption of glucose. Biochim. biophys. Acta (Amst.) *23*, 210-211 (1957).

37 Landau B. R. and Wilson T. H.: The role of phosphorylation in glucose absorption from the intestine of the golden hamster. J. biol. Chem. *234*, 749-753 (1959).

38 Chinard F. P., Taylor W. R., Nolan M. F. and Enns Th.: Renal handling of glucose in dogs. Amer. J. Physiol. *196*, 535-544 (1959).

39 Poulsson L. T.: On the mechanism of sugar elimination in phlorrhizin glycosuria. A contribution to the filtration-reabsorption theory on kidney function. J. Physiol. *69*, 411-422 (1930).

40 Lundsgaard E.: Die Wirkung von Phlorrhizin auf die Glukoseresorption. Biochem. Z. *264*, 221-223 (1933).

41 Nakazawa F.: Influence of phlorhizin on intestinal absorption. Tôhoku J. exp. Med. *3*, 288-294 (1922).

42 Wilson R. H.: The effect of phlorhizin on the rate of absorption from the gastrointestinal tract of the white rat. J. biol. Chem. *97*, 497-502 (1932).

43 Donhoffer S.: Über die elektive Resorption der Zucker. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. *177*, 689-692 (1935).

44 Bogdanove E. M. and Barker S. B.: Effect of phlorhizin on the intestinal absorption of glucose, galactose, fructose, mannose and sorbose. Proc. exp. Biol. Med. *75*, 77-80 (1950).

45 Brückner J.: Beeinflussung der selektiven Zuckerresorption durch Phlorrhizin, 2,4-Dinitrophenol und Atebrin. Helv. Physiol. Acta *9*, 259-268 (1951).

46 Ponz F. and Lluch M.: Coupling of cell metabolism and active transport in glucose absorption by the intestine. Rev. esp. Fisiol. *11*, 267-276 (1955).

47 Verzár F. und Laszt L.: Hemmung der Fettresorption durch Monojodessigsäure und Phlorrhizin. Biochem. Z. *270*, 35-43 (1934).

48 Verzár F. und Laszt L.: Die Hemmung der Fettresorption durch Phlorrhizin. Biochem. Z. *276*, 1-10 (1935).

49 Lundsgaard E.: Hemmung von Esterifizierungsvorgängen als Ursache der Phlorrhizinwirkung. Biochem. Z. *264*, 209-220 (1933).

50 Lusk G.: Phlorrhizinglukosurie. Ergebn. Physiol. *12*, 315-392 (1912).

51 Lundsgaard E.: Die Monojodessigsäurewirkung auf die enzymatische Kohlehydratspaltung. Biochem. Z. *220*, 1-7 (1930).

52 Lohmann K.: Untersuchungen über die Vergiftung von Froschmuskelextrakt mit Monojodacetat. Biochem. Z. *236*, 444-456 (1931).

53 Wilbrandt W. und Lengyel L.: Der Einfluß der Nebennierenrinde auf die Zuckerresorption. Biochem. Z. *267*, 204-210 (1933).

54 Verzár F. und Laszt L.: Untersuchungen über die Resorption von Fettsäuren. Biochem. Z. *270*, 24-34 (1934).

55 Verzár F. und Süllmann H.: Die Bildung von Phosphorsäureestern in der Darmschleimhaut bei der Resorption. Biochem. Z. *289*, 323-340 (1937).

56 Laszt L.: Die Phosphorylierung verschiedener Zucker durch Darmschleimhautextrakte. Biochem. Z. *276*, 44-48 (1935).

57 Klinghoffer K. A.: The effect of monojodoacetic acid on the intestinal absorption of monosaccharides and sodium chloride. J. biol. Chem. *126*, 201-205 (1938).

58 Oehnell R. and Höber R.: The effect of various poisons on the absorption of sugars and some other non-electrolytes from the normal and the isolated artificially perfused intestine. J. cell. comp. Physiol. *13*, 161-174 (1939).

59 Bissegger A. und Laszt L.: Untersuchungen über die Hexokinasewirkung von Dünndarmschleimhaut auf die Phosphorylierung von verschiedenen Monosacchariden. Helv. Physiol. Acta *9*, C 60 (1951).

60 Csáky T. Z.: Phosphorylation of 3-methylglucose by hexokinase from rat's intestine mucosa. Science *118*, 253-254 (1953).

61 Hele M. P.: The phosphorylation and absorption of sugars in the rat. 1. Hexokinase activity in the intestinal mucosa. Biochem. J. *55*, 857-863 (1953).

62 Laszt L. und Süllmann H.: Nachweis der Bildung von Phosphorsäureestern in der Darmschleimhaut bei der Resorption von Zuckern und Glycerin. Biochem. Z. *278*, 401-417 (1935).

63 Kjerulf-Jensen K. und Lundsgaard E.: Quantitative Wertung des Umsatzes der Phosphatester in der Darmschleimhaut von Ratten während der Fructoseresorption. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *266*, 217-224 (1940).

64 Kjerulf-Jensen K.: The hexosemonophosphoric acids formed within the intestinal mucosa during absorption of fructose, glucose and galactose. Acta Physiol. Scand. *4*, 225-248 (1942).

65 Beck S. V.: Organic phosphate and fructose in rat intestinal mucosa, as affected by glucose and by phlorhizin. J. biol. Chem. *143*, 403-415 (1942).

66 Süllmann H. und Wilbrandt W.: Phosphatid-Bildung im Darm bei der Fettresorption. Biochem. Z. *270*, 52-62 (1934).

67 Laszt L.: Die Resorption von Glukose und Xylose bei verschiedener H-Konzentration. Biochem. Z. *276*, 40-43 (1935).

68 Ponz F. and Larralde J.: Effect of phosphates and the pH on sugar absorption. Nature *168*, 912-913 (1951).

69 Lambrechts A.: Influence de la phlorhizine sur la phosphatase rénale. Compt. rend. soc. biol. *123*, 311-313 (1936).

70 Sols A.: The hexokinase activity of the intestinal mucosa. Biochim. biophys. Acta (Amst.) *19*, 144-152 (1956).

71 Sols A.: Phosphorylation et transport actif des sucres. Bull. soc. chim. biol. (Paris) *39*, suppl. II, 3-15 (1957).

72 Crane R. K. and Krane St. M.: On the mechanism of the intestinal absorption of sugars. Biochim. biophys. Acta (Amst.) *20*, 568-569 (1956).

73 Shapiro B.: The mechanism of phloridzin glycosuria. Biochem. J. *41*, 151-154 (1947).

74 Parsons B. J., Smyth D. H. and Taylor C. B.: The action of phlorhizin on the intestinal transfer of glucose and water in vitro. J. Physiol. *144*, 387-402 (1958).

75 Newey H., Parsons B. J. and Smyth D. H.: The site of action of phlorhizin in inhibiting intestinal absorption of glucose. J. Physiol. *148*, 83-92 (1959).

76 Jervis E. L., Johnson F. R., Sheff M. F. and Smyth D. H.: The effect of phlorhizin on intestinal absorption and intestinal phosphatase. J. Physiol. *134*, 675-688 (1956).
77 Lotspeich W. D. and Woronkow S.: Some quantitative studies on phlorhizin inhibition of glucose transport in the kidney. Amer. J. Physiol. *195*, 331-336 (1958).
78 Marsh J. B., Drabkin D. L. and Goddard W. B.: Kidney phosphatase in alimentary hyperglycemia and phlorhizin glucosuria. A dynamic mechanism for renal treshold for glucose. J. biol. Chem. *168*, 61-73 (1947).
79 Rosenberg Th. and Wilbrandt W.: Enzymatic processes in cell membrane penetration. Intern. Rev. Cytol. *1*, 65-92 (1952).
80 Widdas W. F.: Kinetics of glucose transfer across the human erythrocyte membrane. J. Physiol. *120*, 23P-24P (1953).
81 Le Fèvre P. G.: The evidence for active transport of monosaccharides across the red cell membrane. Symp. Soc. exptl. Biol. *8*, 118-135 (1954).
82 Rosenberg Th. and Wilbrandt W.: Uphill transport induced by counterflow. J. gen. Physiol. *41*, 289-296 (1958).
83 Rosenberg Th.: On accumulation and active transport in biological systems. I. Thermodynamic considerations. Acta Chem. Scand. *2*, 14-33 (1948).
84 Wilbrandt W.: Permeabilitätsprobleme. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. *212*, 9-31 (1950).
85 Portmann P.: Zur Kenntnis der alkalischen Darmphosphatase. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *309*, 87-128 (1957).
86 Lundsgaard E.: The effect of phloridzin on the isolated kidney and isolated liver. Skand. Arch. Physiol. *72*, 265-270 (1935).
87 Verzár F. and McDougall E. J.: Absorption from the intestine. Longmans, London 1936.
88 Drabkin D. L.: Hyperglycemia, glycosuria and dephosphorylation – the role of the phosphatases. Proc. Amer. Diabet. Ass. *8*, 171 (1948).

CURRICULUM VITAE

Geboren am 24. Mai 1934 in Freiburg (Schweiz).

1941-1946: Deutsche Primarschule in Freiburg.

1946-1954: Deutsches Gymnasium am Kollegium St. Michael in Freiburg.

1954: Maturitätsprüfung, Typ A.

1954-1957: Universität Freiburg, vorklinische Studien.

1957-1958: Universität Basel, Medizinische Fakultät.

1958: Universität Wien, Medizinische Fakultät.

1958-1960: Universität Basel, Medizinische Fakultät.

1960: Eidgenössisches Staatsexamen für Ärzte.

1961: Physiologisch-chemisches Institut der Universität Freiburg (Prof. P. Portmann), Arbeit an der vorliegenden Dissertation.

1962: Assistenzarzt im Claraspital, Basel, intern-medizinische Abteilung (Dr. A. Thurnherr).

1963-1966: Assistenzarzt im Kinderspital Basel: medizinische Abteilung (Prof. A. Hottinger), chirurgische Abteilung (Prof. R. Nicole), psychiatrische Abteilung (PD Dr. C. Haffter). Diese Periode wurde unterbrochen durch einen viermonatigen Aufenthalt in Léopoldville (Kongo) als Arzt im Auftrag des Schweizerischen Roten Kreuzes (1963/64).